

# 貝殻中の微量金属のフレイム

## 原子吸光による分析法の検討

井上節子 福林三千代

貝殻中に蓄積する微量重金属 (Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn) を定量した。この際、貝殻中に含有される多量のカルシウムが前記金属の定量を妨害するので、①硫酸アンモニウムによる方法、②溶媒抽出法、③ジルコニウム共沈法で、カルシウムの除去を検討した。溶媒抽出法は、他の二法に比べて高い値を示した。ジルコニウム共沈法は、操作が最も簡便で再現性が比較的高い。

貝殻中の分析、溶媒抽出法では、Cd:0.03, Cu:0.77, Fe:30.8, Mn:5.86, Pb:0.11, Zn:7.22 ppm, Zr 共沈法では、Cd:0.01, Cu:0.86, Fe:38.5, Mn:7.85, Pb:0.21, Zn:7.42 ppm という値を得た。

### 緒 言

生物環境における微量成分、特に重金属が生物によって濃縮、または蓄積される過程に関心が持たれている。河川中の微量成分は各河川ごとにかなり異なるので、そこに棲息する同一生物を用いて、生体内に蓄積する微量成分、特に貝殻中に蓄積する微量重金属成分に注目し、調べることにより、環境水と蓄積成分の関連、および生物的濃縮機構を知る手がかりを得ることができる。

貝殻は約 95% の炭酸カルシウムと数% の有機物、およびその他の微量成分より構成されているが、その微量成分中には重金属元素の Sr, Cu, Zn, Fe, Mn 等が含まれることが知られている<sup>1)~6)</sup>。一方、汚染した環境水に棲息する貝の貝殻中には、Hg, Ag, Cd, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb, V 等の重金属が蓄積されることが報告されている<sup>7)</sup> 今回の研究では、微量金属の分析に最適な、原子吸光分析を用いて、Cu, Zn, Fe, Mn および廃水規制の厳しい Cd, Pb 以上の 6 種類の重金属の貝殻に含まれる量程度における分析方法の確立を目的として、各種の検討を行った。

### 実 験

#### 1. 試 薬

硝酸：和光, SSG, 過塩素酸：和光, SSG, 塩酸：和光, SSG, 硫酸アンモニウム(硫安)：和光, 原子吸光分析用, 10% ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DTC)：和光, 原子吸光分析用, ジエチルイソブチルケ

トン (DIBK)：和光, 原子吸光分析用, ジルコニウム溶液 (Zr)：和光特級オキシ塩化ジルコニウム ( $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ ) 3.53 g を蒸留水に溶解して、100 ml とした。(Zr 濃度 10 mg/ml)。2% 水酸化アンモニウム：和光, SSG, 10% 酢酸ナトリウム：和光, 特級, 各種金属 (Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn) 標準溶液：和光, 原子吸光分析用 (1000 ppm) を、適宜希釈して用いた。

#### 2. 装 置

フレイム原子吸光：島津 AA-610 形

#### 3. 試 料

貝殻：アサリ (千葉県木更津海岸採取)

#### 4. 灰化操作

貝殻を蒸留水で煮沸水洗後、乾燥恒量にしたのち、10 g をとり、硝酸 20 ml と沸石 (硬質ガラス) の入ったケルダールフラスコ中に入れる。ケルダール分解炉で徐々に加熱、白色沈殿が生成し、硝酸がほとんどなくなったら、加熱を中止、冷却後分解試料とする。ブランクについても同様に処理し、分解試料とする。

#### 5. カルシウム除去操作

##### 5-1 硫酸アンモニウム法

貝殻 10 g を前法の灰化操作に従って分解した試料を、1 規定硝酸で加熱溶解し 50 ml にする。Cu 測定のため 25 ml (貝殻 5 g 相当)、Fe, Mn, Zn の測定のためには、10 ml (貝殻 2 g 相当) を取り、蒸留水を加え 30 ml 弱にし、硫安溶液 (70 g/100 ml) を添加する。(Cu は 20 ml, Fe, Mn, Zn は 7.5 ml)。蒸留水で 50 ml とする。生成した硫酸カルシウムの沈殿をろ過し、ろ液だけを、原子吸光測定用試料とする。標準試料は、貝殻試料の代わりに、

同量の炭酸カルシウムを硝酸で溶かした溶液中に測定イオンを添加し、試料と同様に、沈殿ろ過操作を行い、ろ液を標準試料とする。

### 5-2 溶媒抽出法

貝殻10gに相当する分解試料を2規定塩酸25mlに溶解する。Cd, Cu, Pb の場合はその25ml, Fe, Mn, Zn の定量の場合は5mlを用いて、試料とし、緩衝溶液として10%酢酸ナトリウム溶液10mlを加え、アンモニア水と塩酸でpH3に調整する。これに10%DDTC溶液10mlを加え、分液ろうと中で5分間手で振とうする。それぞれ、5ml, 10mlのDIBKを加え、さらに8分間振とう抽出し、これを測定試料とする。標準試料についても同様に処理し、測定試料溶液とする。

### 5-3 ジルコニウム共沈法

溶媒抽出法と同様に溶かした試料溶液を作り、含有量の多い、Fe, Mn, Zn の場合は5ml(貝殻2g相当)、含有量の少ないCd, Cu, Pb の場合は25ml(貝殻10g相当)取り、蒸留水約500mlを加え、ついでオキシ塩化ジルコニウム溶液5ml(Zr 50mg)を添加する。これをアンモニア水(1:1)を添加しながらよく攪拌し、pH9に調整する。Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn はZrと共沈する。この沈殿物をNo5Aろ紙でろ過して集め、2%アンモニア水50mlで水洗し、熱2規定塩酸で完全に溶解し、全量50mlにし、測定試料とする。標準試料の作成は、2規定塩酸にオキシ塩化ジルコニウム溶液(Zr 50mg)、および測定イオンを定量的に添加し50mlにする。これを測定試料とする。

## 6. 測定条件

測定条件につき検討を行ったうえで、次の条件で測定試料を測定した。

表1 測定条件

波長: Cd 228.80nm	ランプ電流: 10mA
Cu 324.75nm	スリット巾: 1.9Å
Fe 248.33nm	バーナースロットフレーム: AIR-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>
Mn 279.48nm	AIR流量: 10ℓ/min
Pb 283.33nm	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> 流量: 水溶液 2.0ℓ/min
Zn 213.86nm	有機溶媒 0.8ℓ/min

## 結果と考察

### 1. 灰化方法

乾式灰化法は、多くの金属元素を塩化物、その他のハロゲン化合物、有機金属化合物の形で揮散するおそれがあり、また、目的金属の容器への吸着や、不溶性酸化物の形成など問題があるので、金属分析には不相当であ

る<sup>10)</sup>。このため本研究では湿式分解法を用いて貝殻の分解を行った。この方法は硝酸、過塩素酸、過酸化水素等の酸化剤を用いて低い温度で酸化分解を行う方法であるが、処理に時間がかかること、試薬、その他に含まれる微量物質による汚染が生じやすい欠点がある。分解剤の選択については、硫酸-酸化剤、塩酸-酸化剤、硝酸-酸化剤等多くの組合せがあるが、硫酸、塩酸の高濃度溶液は重金属の原子吸光測定上負の干渉があるので、硝酸を用いることにした。組成のほとんどが炭酸カルシウムである貝殻では、硝酸のみで分解速度も早く、回収もよかった。

### 2. カルシウムの影響

貝殻中に炭酸カルシウムとして沈着しているCa量は約39%と多量である。このものが他の微量金属測定上どのように影響するかを検討したところ図1に示すように、明らかに共存するCaイオンの影響で原子吸光上の吸収ピークが高くなるという結果が得られた。これは多量のCaの一部がフレイム中で原子化されずに残り、分子吸収を起し妨害するものと推定される。またこの高濃度のCaは測定操作中吸入ノズルを度々詰まらせる原因ともなる。したがってこのCa、を測定目的とする微量元素と分離する操作が必要である。

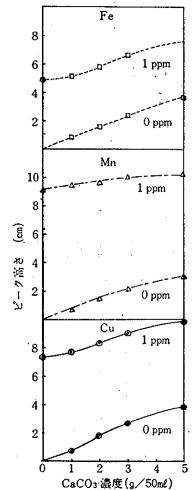


図1 Cu, Fe, Mn, の吸収ピークの共存Caによる影響

### 3. 硫酸アンモニウムによるカルシウムの沈殿除去の検討

Caと沈殿物を生成し、測定微量元素とは沈殿物を生成しないものとして、硫酸を選んだ。その理由は生成する硫酸カルシウムの溶解度が0.298g/100g(20°C)と低いこと、および純度の高い試薬が容易に入手できることのためである。沈殿剤の添加量は貝殻1gあたり2.5gと過剰にし、実験5-1の操作法に従って求めた貝殻中の微量元素の測定結果、およびこの方法の回収率結果を表2に示す。結果によって明らかなように回収率の再現性が非常に悪かった。またCd, Pbはこの方法の検出限界以下の微量であった。再現性の悪い原因は、大量に生成する沈殿物中に測定目的の元素の一部が含まれるためと考えられる。したがってこの方法は定量分析法としては

表2 沈澱法, 溶媒抽出法, ジルコニウム共沈法によるアサリ分析結果の比較

方 法		Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
沈 澱 法	* 貝殻中濃度(ppm)	ND	0.88	62.9	28.5	ND	5.44
	回 収 率 (%)		100.3±4.8	80.4±30.3	115.6±27.0		105.4±19.1
溶 媒 抽 出 法	** 貝殻中濃度(ppm)	0.03	0.77	30.8	5.86	0.11	7.22
	回 収 率 (%)	94.3±2.6	94.6±2.3	112.7±9.6	98.2±4.9	89.8±4.5	71.1±10.6
ジ ル コ ニ ウ ム 共 沈 法	** 貝殻中濃度(ppm)	0.01	0.86	38.5	7.85	0.17	7.40
	回 収 率 (%)	45.9±2.0	74.3±5.8	93.3±6.7	93.3±8.7	98.5±6.0	74.3±9.0

貝殻濃度は補正值である

\* 52年4月入手の木更津海岸採取アサリ

\*\* 52年7月入手の木更津海岸採取アサリ

不適當である。

4. 溶媒抽出法によるカルシウム除去の検討

4-1 pHの影響

DDTCキレート生成時各測定金属元素に対するpHの影響を調べるため, 次の実験を試みた。炭酸カルシウム2gに各測定元素を一定量添加し, 緩衝溶液として10%酢酸ナトリウム10mlを加え, アンモニア水と塩酸でpH1~4に調整し, 5-2の方法に従って抽出測定した。図2の

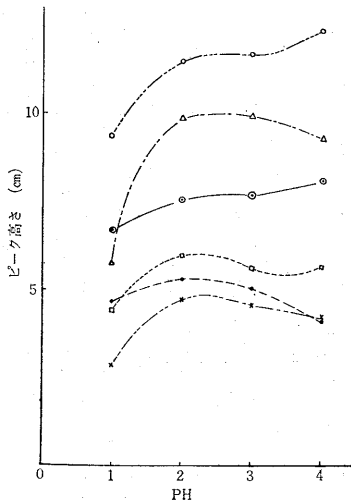


図2 pHの影響

Cd: ●---● Cu: —●— Fe: □---□  
Mn: △---△ Pb: ---×--- Zn: ---○---

結果から pH 2~3 を適當と認めた。

4-2 抽出剤の検討

溶媒抽出時に Ca 沈澱物が生ずると収率が悪くなり, 分離もうまくいかない。したがって沈澱が生成しないような塩析剤, 緩衝剤, 抽出剤を選んで抽出するよう考慮した。塩析剤としては一般に使われる硫酸が今回使用できないので塩化アンモニウムを検討した。しかしこれを添加しても収率がほとんど変わらなかった。このことから多量に共存する Ca イオンが塩析剤の役目をするものと思われるので塩析剤は特別に入れないこととした。緩衝剤は金属イオンと DDTC とのキレート生成時に溶液の pH の移動を防ぎキレートの生成を収率よく行わせる役目を果たす試薬である。種々の緩衝剤の中から Ca イオンと沈澱を生成しないこと, また pH 2~3 の緩衝液であること等から10%酢酸ナトリウムを選んだ。特に Fe については酸性側で抽出しないと良い結果が得られない。次に抽出剤の選択については, 最も一般的な MIBK と, DIBK を検討した結果, 既知量添加法で回収率をみてみ

表3 MIBK と DIBK の回収率 (%) の比較

試料 g	抽出剤 ml	Cd	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
10	MIBK 5	70.3	82.5	81.5			
	10				64.9	×	75.4
10	DIBK 5	97.7	94.3	92.3			
	10				103.1	93.3	60.4

## 貝殻中の微量金属のフレイム原子吸光による分析法の検討

ると、表3のようであった。MIBK は水に3%前後とける。また抽出分離のとき、MIBKはDDTC水層とエマルジョン状態になり分離がしにくい。これらの点から、この貝殻試料の場合はDIBKを抽出剤として使用することとした。

### 4-3 試料量の検討

実験5-2の操作で試料量2~10gまで変化させて、Cd, Cu, Pbについてその回収率を測定した。検出感度から考えて試料量を決めなくてはならないが、貝殻中にはCd, Cu, Pbは極微量であるので、貝殻10g以上を必要とする。その他の金属は2gで充分測定可能である。そこで試料溶液を増加したとき回収率がどのように変化するか検討した。表4に示すように多少回収率は低下するが測定は充分可能であるので、10gで測定することとした。

表4 試料量増加の回収率(%)

試料 g	Cd	Pb	Cu
2	126.0	109.2	105.0
10	97.7	94.3	92.3

### 4-4 振とう時間の検討

一般に振とう時間の多少は抽出率に影響するが、このほか今回はそれが有機層と水層の分離状態にも影響すると思われたので、振とう時間の検討を行った。DDTCとのキレート生成時の時間は2gの場合も、10gの場合も5分間で充分な抽出結果を得た。次のDIBKによる抽出時ではDIBKが5mlの場合も、10mlの場合も12分間位までは抽出率が時間と共に上昇していくが、8分間をすぎると有機層と水層が懸濁して、非常に分離が悪くなった。このため、以後の実験は8分間の振とう時間に決めた。

### 4-5 結果と再現性

最終的に決定した実験5-2の操作に従って、アサリ貝殻の微量元素の分析を行った。表2に示したものがその結果と回収率である。この方法はFe, Znは再現性がやや悪かったが、その他の元素は回収率、再現性ともに良い結果であった。

## 5. ジルコニウム共沈法によるカルシウム除去の検討

多量の塩類溶液から微量の測定目的元素を迅速に取り出す方法の一つに共沈法がある。その共沈剤の選択にあたっては、定量性、再現性、および原子吸光上の干渉、試薬の毒性等を検討した結果、ジルコニウムに決めた。

### 5-1 pHの影響

各測定目的元素の共沈時の最適pHを検討した結果、

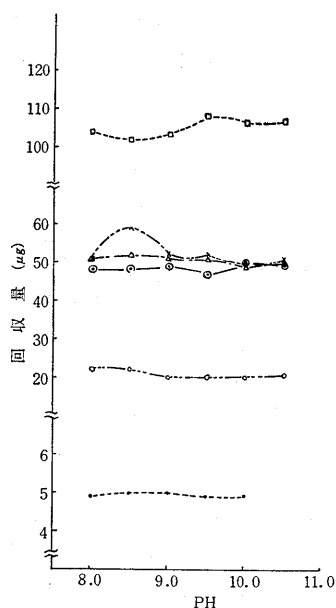


図3 pHと各種金属回収量の関係

Cd : ...●... 5 μg/100ml 添加  
 Fe : ...□... 100 μg/100ml "  
 Pb : ...×... 50 μg/100ml "  
 Cu : ●— 50 μg/100ml "  
 Mn : —△— 50 μg/100ml "  
 Zn : ...○... 20 μg/100ml "

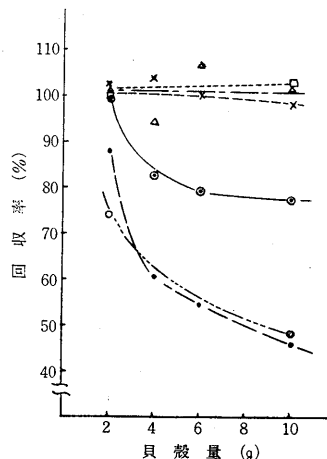


図4 貝殻量の回収率への影響

Zr : 50mg, 液量 : 50ml  
 Cd : ●— 5 μg 添加  
 Cu : ●— 25 μg "  
 Fe : ...□... 100 μg "  
 Mn : —△— 50 μg "  
 Pb : ...×... 50 μg "  
 Zn : ...○... 20 μg "  
 貝殻 0g の場合はいずれも100%回収率

図3に示すように Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn いずれも pH8.0~10.5 の間ではほぼ100% 近く回収できることがわかった。

5-2 試料量の影響

各測定元素の共沈時に、共存する Ca が回収率にどのように影響するかを検討した。図4に示すように Cd, Cu, Zn に対しては Ca が影響し回収率が低下する。特に Cd, Zn, は著しい。Mn, Fe, Pb については試料 1.0 g (Ca, 3.9 g 相当) でも影響しない。貝殻中の Cd は極微量なため、試料量は10g よりさらに多くすることが望ましいが Ca の妨害が大きくなり回収率が50%を大巾に下回ることが明らかなため、これ以上多くすることができない。

5-3 液量の影響

Ca の共存しない場合は各測定元素は液量に関係なくほぼ100%回収される。Ca が多量にある場合は全体の液量の影響が認められた。図5に示すように回収率の低い Cd, Cu は液量を多くすることにより、回収率は徐々に良くなってゆく。これは液量の増加による Ca 濃度低下によりその影響が緩和されるためと思われる。しかし実験上から 500ml 以上液量を多くすると、ろ過に時間がかかりすぎる。

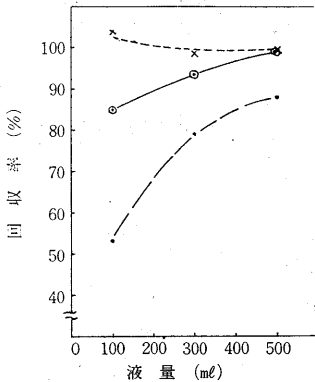


図5 液量と回収率の関係

試料量: 2g Zr: 50mg  
 Cd: ●— 5 μg 添加  
 Cu: ○— 25 μg "  
 Pb: ×...× 50 μg "

5-4 ジルコニウム量の影響

共沈剤の回収率に及ぼす影響について、特に回収率の低い Cd, Cu で検討した。図6から明らかなように、Zr 量の増加と共に回収率も良くなる。しかし実験操作上から 100mg 以上を用いるとろ過に時間がかかること、また原子吸光測定上 Zr 量が多いと Cd, Pb の吸収ピークに影響することから、Zr 量には上限が存在する。

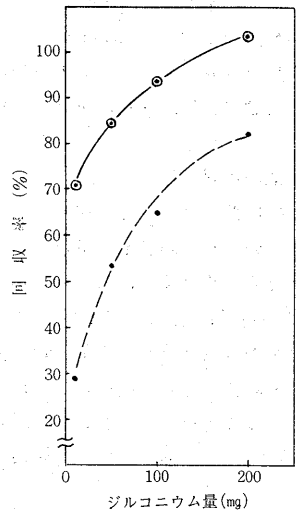


図6 ジルコニウム量と回収率の関係

試料: CaCO<sub>3</sub> 2g 液量 100ml  
 Cd: ●— 5 μg/100ml 添加  
 Cu: ○— 50 μg/100ml "

響することから、Zr 量には上限が存在する。

5-5 Cd, Pb の濃縮

Cu, Fe, Mn, Zn は貝殻中に検出限界量以上の充分量が含まれているが、Cd, Pb の場合は検出限界附近、またはそれ以下の場合もある。現方法ではこの検出限界は、貝殻10g あたり Cd は 0.1 μg, Pb は 1 μg である。試料量を多くすれば検出可能なはずであるが、前述のように Cd の回収率の低下、ろ過操作時間の延長等いろいろ不都合があって難しい。そこで共沈時は試料量 10g ずつで行い、その後その沈澱物を塩酸に溶かす時、同じ 50ml 塩酸溶液にいくつもの共沈物を溶かすことにより、溶液を濃縮することが実験的に可能である。現在この方法により回収率や、濃縮による検出限度の上昇などについて検討中である。

5-6 結果と再現性

最終的に決定した実験 5-3 の操作に従って、各測定目的元素の貝殻中濃度の測定結果、および既知量添加によるジルコニウム共沈法の回収率結果を表2に示す。Cd の回収率は低い再現性は比較的良好である。同じ貝殻試料の溶媒抽出法の測定結果と比較して、ほぼ近い値を示している。

まとめ

3方法を比較検討すると、回収率の高いこと、および含有量の低い Pb, Cd の検出限度が良いことでは、溶媒

## 貝殻中の微量金属のフレイム原子吸光による分析法の検討

抽出法は他の2方法より優れている。再現性は溶媒抽出法、ジルコニウム共沈法ともほぼ同じである。しかし硫酸アンモニウム法は非常に悪い。実験操作の簡便な点ではジルコニウム共沈法が最もよい。今後この共沈法は実験条件をさらに検討続けることにより、貝殻中の各微量元素に関して、濃縮して検出限界を高めることが可能であると予想される。

### 参 考 文 献

- 1) 和田浩爾, 藤貫正国立真珠研究所報告18: 2085—2110 (1974)
- 2) 堀口吉重: 日水誌22: 747—751 (1957)
- 3) 同上: 同上 25: 392—396 (1959)
- 4) 同上: 同上 25: 397—401 (1959)
- 5) 同上: 同上 25: 675—679 (1959)
- 6) 同上: 同上 23: 710—715 (1958)
- 7) R. R. Brooks, M. G. Rumsby: *Limnol. Oceanog.* 10, 521 (1965)
- 8) 重松恒信: 18回分析化学討論会
- 9) 重松恒信, 他: 日化 (1975) 1328—1321
- 10) 保田和雄, 長谷川敬彦: “原子吸光分析”: 講談社(サイエンスフィック)
- 11) 佐藤彰, 斎藤憲光: 分化: 25, 663—667 (1976)
- 12) 吉村坦: 分化: 22, 1346—1349 (1973)
- 13) 同上: 同上: 23, 1005—1009 (1974)
- 14) 同上: 同上: 24, 714—717 (1975)
- 15) P. N. W. Young: *Analyst.* 99, 588—594 (1974)